

454.004

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of:

PARIS et al

Serial No.:

Filed: Concurrently Herewith

For: PROCESS...N-CARBOXY-
ANHYDRIDES

:
:
:
:
:
:

475 Park Avenue South
New York, NY 10016

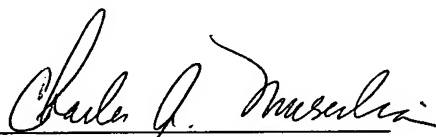
PRIORITY DOCUMENT

Hon. Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

With respect to the above-captioned application, Applicants claim the priority of
the attached application as provided by 35 U.S.C. 119.

Respectfully submitted,
Muserlian, Lucas and Mercanti



Charles A. Muserlian, 19,683
Attorney for Applicant(s)
Tel. # (212) 661-8000

CAM:sd

Enclosure: Certified Priority Document

French Patent Application No. 02 13498 filed October 29, 2002
Return Receipt Postcard



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 03 SEP. 2003

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. Planche', is written over a horizontal line.

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété Intellectuelle - Livre VI



N° 11354*01

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

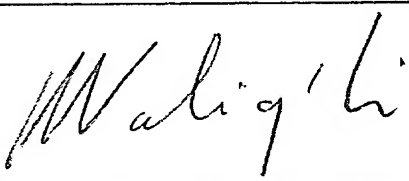

DB 540 W / 260899

REMISE DES PIÈCES DATE 29 OCT 2002 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0213498 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE 29 OCT. 2002 PAR L'INPI		1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE SNPE Service Propriété Industrielle 12, Quai Henri IV 75181 PARIS - CEDEX 04 FRANCE	
Vos références pour ce dossier (facultatif) B. 1196 - PI/ 4			
Confirmation d'un dépôt par télécopie <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie			
2 NATURE DE LA DEMANDE		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
<i>Demande de brevet initiale</i> N° _____ Date ____/____/____ <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i> N° _____ Date ____/____/____			
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i> N° _____ Date ____/____/____			
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Procédé de purification des N-carboxyanhydrides			
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
5 DEMANDEUR		<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
Nom ou dénomination sociale		ISOCHEM	
Prénoms			
Forme juridique		Société Anonyme	
N° SIREN		3 . 0 . 4 . 8 . 2 . 8 . 5 . 0 . 2	
Code APE-NAF		2 . 4 . 4 . A	
Adresse	Rue	12, Quai Henri IV	
	Code postal et ville	75004	PARIS
Pays		FRANCE	
Nationalité		Française	
N° de téléphone (facultatif)			
N° de télécopie (facultatif)			
Adresse électronique (facultatif)			



BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 2/2

REMISE DES PIÈCES DATE 25 OCT 2002 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0213498 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		Réservé à l'INPI	
V s références pour ce dossier : <i>(facultatif)</i>		B. 1196 - PI/4	
6 MANDATAIRE			
Nom			
Prénom			
Cabinet ou Société		SNPE	
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel		LC 018B	
Adresse	Rue	12, Quai Henri IV	
	Code postal et ville	75004	PARIS
N° de téléphone <i>(facultatif)</i>			
N° de télécopie <i>(facultatif)</i>			
Adresse électronique <i>(facultatif)</i>			
7 INVENTEUR (S)			
Les inventeurs sont les demandeurs		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée	
8 RAPPORT DE RECHERCHE		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Paiement échelonné de la redevance		Paiement en trois versements, uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non	
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention <i>(joindre un avis de non-imposition)</i> <input type="checkbox"/> Requête antérieurement à ce dépôt <i>(joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence) :</i>	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) Carol WALIGORSKI Chef du Service Propriété Industrielle PG 10206		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI  	

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

L'invention concerne un procédé de purification des N-carboxyanhydrides d'amino-acides.

Les N-carboxyanhydrides (abréviation NCA) dérivés d'aminoacides notamment des α -, β -, ou γ - amino-acides
5 sont des intermédiaires très utiles en raison de l'activation de la fonction acide et de la protection de la fonction amine qu'ils présentent. Ils permettent en effet la réaction de cette fonction acide avec toute entité nucléophile. Ainsi l'obtention de la fonction
10 amide par réaction avec une fonction amine est facilitée. De ce fait, ils polymérisent facilement et sont utilisés pour former des peptides. La liaison ester par réaction avec un alcool se crée également aisément. Ils sont aussi intéressants lorsqu'on souhaite réduire
15 une fonction acide. Leurs caractéristiques sont plus particulièrement décrites dans l'ouvrage de référence : " α -Aminoacid-N-Carboxyanhydrides and Related Heterocycles" par H.R. Kricheldorf-1987 - Springer-Verlag.

Pour la plupart de leurs applications, il est
20 nécessaire qu'ils soient très purs, en particulier non colorés, exempts du stéréoisomère non souhaité et débarrassés des composés de départ n'ayant pas réagi ainsi que des sous-produits de la réaction.

Les procédés classiques de purification tels que la
25 recristallisation ou la décoloration en présence de charbon actif ne donnent pas satisfaction.

Les N-carboxyanhydrides qui polymérisent facilement sont également très sensibles à l'hydrolyse. En raison de ces caractéristiques, un traitement ultérieur de
30 purification après leur obtention pose problème.

Il existait par conséquent un besoin de trouver un procédé de traitement des N-carboxyanhydrides utilisable à l'échelon industriel et qui permette de les obtenir sans coloration, plus purs et avec un très bon
35 rendement.

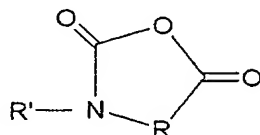
Le procédé de purification des N-carboxyanhydrides selon la présente invention est caractérisé en ce que l'on met le ou les N-carboxyanhydrides d'amino-acides à purifier, en solution ou en suspension dans un milieu solvant non polaire, en contact avec de la silice.

A l'issue de ce traitement la coloration des N-carboxyanhydrides a pratiquement disparu. Ils n'ont pas été dégradés. Leur pureté est améliorée. Les composés optiquement actifs n'ont pas subi de racémisation. Des polymères ne se sont pas formés. Ce dernier résultat est surprenant car la silice est habituellement connue pour favoriser la polymérisation des N-carboxyanhydrides. Le rendement est excellent, souvent supérieur à 99%.

On a de plus trouvé que la purification peut encore être améliorée en soumettant les N-carboxyanhydrides, purifiés comme précédemment indiqué au moyen de la silice, à un traitement par un acide minéral ou organique.

Ce procédé permet d'éliminer les traces de matières organiques ou minérales restant encore dans les N-carboxyanhydrides.

Les N-carboxyanhydrides qui sont purifiés par le procédé de la présente invention sont tous les N-carboxyanhydrides d'amino-acides naturels ou synthétiques. Ils sont habituellement représentés par la formule



dans laquelle R représente le radical central compris entre la fonction acide et la fonction amine de l'acide, éventuellement modifié, R' représente un atome hydrogène ou le radical porté au départ par l'atome d'azote de l'acide ou qui a été fixé ou modifié

ultérieurement et qui peut être lié à R, notamment lorsque les amino-acides sont cycliques.

En particulier, ce sont les N-carboxyanhydrides des α -, β -, ou γ - amino-acides et plus particulièrement des α -amino-acides.

Les groupes réactifs présents dans les composés sont sous forme protégée ou non, comme il est habituel.

Les N-carboxyanhydrides peuvent être sous leurs différentes formes et notamment lorsqu'ils possèdent un ou plusieurs carbones asymétriques, sous leurs différentes formes stéréochimiques telles que racémiques, énantiomères ou diastéréoisomères. Le procédé de purification selon l'invention n'entraîne pas de racémisation et les stéréoisomères de même configuration que celle de départ pourront être obtenus.

Le procédé convient particulièrement bien pour la purification de composés tels que ceux décrits dans la demande de brevet FR n° 2 815 962.

Selon le procédé de l'invention, les N-carboxyanhydrides à purifier doivent être mis en contact avec de la silice.

Pour favoriser le contact entre les N-carboxyanhydrides et la silice, la purification a lieu au moyen d'un milieu solvant des N-carboxyanhydrides et non polaire. Comme solvants non polaires les hydrocarbures aromatiques conviennent bien, en particulier le toluène ou le xylène.

Les différents procédés connus de mise en contact entre des liquides et des solides peuvent être utilisés. Le mélange des N-carboxyanhydrides, de la silice et du milieu solvant peut être simplement placé sous agitation. La silice peut également constituer le garnissage d'une colonne ou être sous forme de lit fixe. Le mélange formé par le ou les N-carboxyanhydrides et le

milieu solvant passe alors à travers le garnissage ou le lit fixe.

Comme silice, on utilise de préférence les silices appartenant à la catégorie connue sous la dénomination
5 gel de silice, par exemple telles que celles utilisées classiquement pour la chromatographie.

Les N-carboxyanhydrides peuvent être complètement dissous dans le milieu solvant ou former une suspension dans celui-ci. Généralement, on préfère qu'ils soient en
10 grande partie dissous et le choix du solvant sera fonction du ou des N-carboxyanhydrides à purifier.

Comme il est connu, les N-carboxyanhydrides sont très sensibles à l'hydrolyse. Pour cette raison le traitement est de préférence effectué sous atmosphère
15 anhydre, par exemple sous atmosphère d'azote.

La durée du contact, les quantités de silice et de solvant utilisés dépendent des N-carboxyanhydrides, de l'importance de la coloration à faire disparaître et de la méthode du contact utilisée.

20 Si nécessaire, le mélange peut être chauffé à une température qui ne dégrade pas les N-carboxyanhydrides.

Des quantités de silice inférieures à 5%, la température ambiante, un temps de contact d'une à quelques heures sont généralement suffisants lorsqu'on
25 choisit d'agiter le mélange dans un réacteur.

Le traitement terminé, on récupère les N-carboxyanhydrides selon les méthodes classiques. Notamment, après avoir séparé la silice du mélange, on fait précipiter les N-carboxyanhydrides en éliminant le
30 solvant ou en ajoutant un liquide non-solvant des N-carboxyanhydrides, après avoir éventuellement enlevé une partie du solvant, par exemple par distillation. Comme liquide de précipitation, on peut citer les alcanes tels que l'heptane, le cyclohexane, les éthers tels que
35 l'éther de méthyle et de tertio-butyle, l'éther de diisopropyle.

On constate que les N-carboxyanhydrides récupérés ne sont plus colorés et sont généralement des solides de couleur blanche. Les analyses montrent que la pureté des composés augmente et qu'il n'y a pas eu de racémisation des isomères optiques. Les rendements sont bons, souvent
5 de l'ordre de 99%.

Pour améliorer encore ces résultats, si nécessaire, on peut après avoir traité les N-carboxyanhydrides avec la silice, les mettre en contact une ou plusieurs fois
10 avec une solution aqueuse d'un acide minéral ou organique.

De préférence, on effectue ce traitement à un pH de 1 à 2.

Comme acides, on peut citer les acides minéraux
15 tels que l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique et les acides organiques tels que l'acide acétique, l'acide citrique.

La concentration de l'acide dans la solution aqueuse est de préférence comprise entre 0,5% p/p et 5%
20 p/p, plus particulièrement entre 0,5% p/p et 1,5% p/p.

De préférence, on utilise un acide minéral et plus particulièrement l'acide chlorhydrique.

Il est préférable d'effectuer le traitement à une température basse comprise entre 0°C et 15°C et de
25 préférence entre 0°C et 5°C.

La solution d'acide est généralement mélangée avec la solution ou la suspension des N-carboxyanhydrides après en avoir extrait la silice. On peut éventuellement avant le traitement changer de milieu solvant. Le
30 traitement terminé, les phases aqueuses sont éliminées par exemple par décantation ou par distillation azéotropique avec le solvant.

Les N-carboxyanhydrides purifiés sont récupérés comme précédemment indiqué de façon connue. Ce
35 traitement supplémentaire permet d'améliorer la pureté



chimique des N-carboxyanhydrides par élimination plus poussée de traces de contaminants.

Ce résultat est surprenant car on pouvait craindre que les N-carboxyanhydrides soient hydrolysés et qu'en
5 conséquence, ils contiennent beaucoup plus d'impuretés.

Les exemples qui suivent illustrent l'invention sans toutefois la limiter.

10

Exemple 1 :

Dans un réacteur de 1 litre équipé, agité et sous courant d'azote, on introduit 600 ml de toluène et 150 g
15 (0,491 mol) de N-[1-(S)-éthoxycarbonyl-3-phénylpropyl]-L-alanyl-N-carboxyanhydride (abréviation : EPAL-NCA), de couleur grisâtre, légèrement rosée. On introduit ensuite 1,5 g de gel de silice (70-200 μm) de la marque Millipore et on agite le mélange pendant environ
20 1 heure.

On filtre le mélange et on rince la silice au toluène. Puis on concentre le filtrat jaune pâle recueilli par distillation sous pression réduite.

On ajoute ensuite dans le milieu de l'heptane B. Un
25 précipité se forme. On refroidit le milieu pour faire complètement précipiter l'EPAL-NCA.

On filtre la suspension et on rince le solide avec de l'heptane B. On sèche ensuite en étuve sous vide le gâteau blanc humide.

30 On recueille alors 148,7 g (rendement 99,1%) d'EPAL-NCA purifié, solide blanc.

Les caractéristiques de l'EPAL-NCA de départ et obtenu après purification sont rassemblées dans le tableau suivant :

35

Caractéristiques	EPAL-NCA de départ	EPAL-NCA purifié
Apparence	Solide gris légèrement rosé	Solide blanc
Pouvoir rotatoire α_D^{25} (c=2, CH ₃ CN)	+12,3°	+12,4°
Pureté par HPLC	99,80%	99,90%

Exemple 2 :

On traite comme à l'exemple 1, 200 g d'EPAL-NCA dans 800 ml de toluène avec 2,0 g de gel de silice (40-
5 70 μ m).

On filtre le mélange pour séparer la silice et on la rince au toluène.

On mélange, sous agitation, 2 fois le filtrat avec 200 ml d'une solution aqueuse à 1 % (p/p) d'acide
10 chlorhydrique, à une température de 0°-5°C et on enlève à chaque fois la phase aqueuse.

On récupère ensuite l'EPAL-NCA en opérant comme à l'exemple 1, après concentration du milieu et au moyen d'heptane B.

15 On obtient 185,6 g d'EPAL-NCA sec (rendement 92,8%) solide de couleur blanche. Ses caractéristiques de départ et après purification sont rassemblées dans le tableau suivant :

Caractéristiques	EPAL-NCA de départ	EPAL-NCA purifié
Apparence	Solide gris	Solide blanc
Pouvoir rotatoire α_D^{25} (c=2, CH ₃ CN)	+12,2°	+12,4°
Pureté par HPLC	99,85 %	99,83 %

Revendications

- 1) Procédé de purification des N-carboxyanhydrides d'amino-acides, caractérisé en ce que l'on met le ou les
5 N-carboxyanhydrides d'amino-acides, en solution ou en suspension dans un milieu solvant non polaire, en contact avec de la silice.
- 2) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce
10 que le contact est réalisé par le mélange de la silice avec le ou les N-carboxyanhydrides en solution ou en suspension dans le milieu solvant non polaire.
- 3) Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé
15 en ce que la silice utilisée est choisie dans la catégorie appelée gel de silice.
- 4) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le milieu solvant est choisi
20 parmi les hydrocarbures aromatiques.
- 5) Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'on traite le ou les N-carboxyanhydrides purifiés avec une solution aqueuse
25 d'un acide minéral ou organique.
- 6) Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que le pH du milieu pendant le traitement est compris entre 1 et 2.
30
- 7) Procédé selon la revendication 5 ou 6, caractérisé en ce que le traitement est effectué à une température comprise entre 0°C et 15°C.

8) Procédé selon l'une quelconque des revendications 5 à 7, caractérisé en ce que l'acide utilisé est un acide minéral.

5 9) Procédé selon la revendication précédente, caractérisé en ce que l'acide minéral est l'acide chlorhydrique.

10

15

20

25

30

35



DÉPARTEMENT DES BREVETS

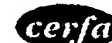
26 bis, rue de Saint Pétersbourg

75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

BREVET D'INVENTION**CERTIFICAT D'UTILITÉ**

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11235*02

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.. / 1..

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260899

Vos références pour ce dossier (facultatif)		B.1196- PI/4	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0213698	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Procédé de purification des N-carboxyanhydrides			
LE(S) DEMANDEUR(S) : ISOICHEM 12, Quai Henri IV 75004 - PARIS			
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois Inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		PARIS	
Prénoms		Antoine	
Adresse	Rue	9, Rue du Renard	
	Code postal et ville	76000	ROUEN
Société d'appartenance (facultatif)		ISOICHEM	
Nom		LEBON	
Prénoms		Marc	
Adresse	Rue	20, Route de Huilet	
	Code postal et ville	91150	ORMOY LA RIVIERE
Société d'appartenance (facultatif)		ISOICHEM	
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		24 - 10 - 2002 	
Carol WALIGORSKI Chef du Service Propriété Industrielle PG 10206			